LANE MEDICAL LIBRARY
SAN FRANCISCO

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1953

N° 800

T H E S E
P O U R   L E
D O C T O R A T   E N   M E D E C I N E
(Diplome d'Etat)

par

GOSSARD, Georges, Eugène, Etienne.
Né le 11 Juillet 1927 à Paris (5°).

Présentée et soutenue publiquement le 1953.

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA CONSERVATION DU VIRUS VACCINAL -
ROLE DE LA DESSICATION SOUS CONGELATION

==========

Président : Mr. GASTINEL, Professeur.

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : COSSARD.

Prénoms : Georges, Eugène, Etienne.

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre :

1

COSSARD (Georges,Eugène, Etienne).-Contribution à l'étude de la conserva - tion du virus vaccinal. Role de la dessication sous congélation.-Paris. Dact. in-4°.46 p. (Th. méd. (Et.), Paris 1953.- N°)
Ed. A.G.E.M.P. 1953

2

COSSARD (Georges,Eugène, Etienne).-Contribution à l'étude de la conserva - tion du virus vaccinal. Role de la dessication sous congélation.-Paris. Dact. in-4°.46 p. (Th. méd. (Et.), Paris 1953.- N°)
Ed. A.G.E.M.P. 1953

3

COSSARD (Georges,Eugène, Etienne).-Contribution à l'étude de la conserva - tion du virus vaccinal. Role de la dessication sous congélation.-Paris. Dact. in-4°.46 p. (Th. méd. (Et.), Paris 1953.- N°)
Ed. A.G.E.M.P. 1953

4

COSSARD (Georges,Eugène, Etienne).-Contribution à l'étude de la conserva - tion du virus vaccinal. Role de la dessication sous congélation.-Paris. Dact. in-4°.46 p. (Th. méd. (Et.), Paris 1953.- N°)
Ed. A.G.E.M.P. 1953

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1953 N°

T H E S E

P O U R L E

D O C T O R A T E N M E D E C I N E

(Diplome d'Etat)

par

COSSARD, Georges, Eugène, Etienne.
Né le II Juillet 1927 à Paris (5°).

Présentée et soutenue publiquement le 1953.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONSERVATION DU VIRUS VACCINAL - ROLE DE LA DESSICATION SOUS CONGELATION

===========

Président : Mr. GASTINEL, Professeur.

DOYEN HONORAIRE :

M.Baudoin

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM.Baudoin, Brindeau, Carnot, Chevassu, Chiray, Clerc, Delbet, Gougerot (H), Guillain, Harvier, Laignel-Lavastine, Laubry, Lemaître, Lemierre, Lhermitte, Lian, Loeper, Marion, Mathieu, Mocquot, Mulon, Olivier, Ombrédanne, Sannié, Sébileau, Sézary, Tanon.

DOYEN.................Léon BINET, Membre de l'Institut

ASSESSEUR............Jean VERNE

I.- PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	CORDIER.(G.)
Anatomie pathologique	DELARUE.(A.)
Bactériologie	GASTINEL.(P.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT.(P.)
Biologie médicale	VERNE.(J.)
Cancérologie médicale et sociale	HUGUENIN.(R.)
Carcinologie	OBERLING.(C.)
Chimie médicale	POLONOVSKI.(M.)
Cliniques chirurgicales... Hôtel-Dieu	BROCQ.(P.)
Cliniques chirurgicales... Saint-Antoine	CADENAT.(F.)
Cliniques chirurgicales... Salpêtrière	MONDOR.(H.)
Cliniques chirurgicales... Cochin	QUENU.(J.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE D'AUBIGNE.(R.)
Clinique de cardiologie	DONZELOT.(E.)
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE.(M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD.(R.)
Clinique de la tuberculose	BERNARD.(E.)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS.(D)
Clinique de puériculture	LELONG.(M.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGOS.(R.)
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER.(P.)
Clinique des maladies du système nerveux	ALAJOUANINE.(T.)
Clinique des maladies des enfants	DEBRE.(R.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET.(P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY.(J.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO.(P.)
Cliniques médicales... Hôtel-Dieu	BENARD.(H.)
Cliniques médicales... Bichat	LAROCHE.(G.)
Cliniques médicales... Cochin	MOREAU.(R.)
Cliniques médicales... Pitié	LEMAIRE.(A.)

MM.

Clinique médicale d'hydro-climatologie thérapeutique..........JUSTIN-BESANCON.(L.)
Clinique medicale propédeutique.........PASTEUR-VALLERY-RADOT.(L.)
Cliniques obstétricales... (Tarnier..........LANTUEJOUL.(P.)
(Baudelocque......LEVY-SOLAL.(E.)
(Port-Royal.......LACOMME.(M.)
Clinique ophtalmologique.....................VELTER.(E.)
Clinique oto-rhino-laryngologique............AUBIN.(A.)
Clinique physio-pathologique des problèmes alimentaires(chaire à titre personnel)..RICHET.(C.)
Clinique psychiatrique infantile.............HEUYER.(C.)
Clinique rhumatologique......................COSTE.(F.)
Clinique stomatologique......................DECHAUME.(M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale..........SENEQUE.(J.)
Clinique thérapeutique médicale..............CHABROL.
Clinique urologique..........................FEY.(B.)
Embryologie..................................GIROUD.(A.)
Génétique....................................LAMY.(M.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie..MOUQUIN.(M.)
Histologie...................................CHAMPY.(C.)
Hygiène et clinique de la première enfance..CATHALA.(J.)
Hygiène et médecine préventive...............JOANNON.(C.)
Médecine du travail..........................DESOILLE.(H.)
Médecine légale..............................PIEDELIEVRE.(R.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale.........................GAILLIARD.(H.)
Pathologie chirurgicale...............DE GAUDARD D'ALLAINES.(F.)
Pathologie exotique..........................LAVIER.(G.)
Pathologie expérimentale et comparée.........LENEGRE.(J.)
Pathologie médicale..........................BARIETY.(M.)
Pathologie et thérapeutiques générales.......DE GENNES.(L.)
Pharmacologie et matière médicale............HAZARD.(R.)
Physico-chimie médicale(chaire à titre personnel).........DOGNON.(A.)
Physiologie..................................BINET.(L.)
Physique médicale............................STROHL.(A.)
Radiologie médicale..........................DESGREZ.(H.)
Technique chirurgicale.......................MOULONGUET.(P.)
Thérapeutique................................TURPIN.(R.)

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE

MAITRE DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

Anatomie..................................... (DEBEYRE.(J.)
(DELMAS.(A.)

Anatomie pathologique........................ (GAUTHIER-VILLARS (Melle P.)Pr.s.ch.
(BUSSER.(F.)

Bactériologie	(FASQUELLE.(R.) (NEVOT.(A.)
Biologie médicale	BOURLIERE.(F.)
Chimie médicale	(SETTORI.(J)Pr.s.ch. (JAYLE.(M.F.)Pr.s.ch. (SCHAPIRA.(G.)
Dermato-syphiligraphie	N...
Histologie	(DESCLAUX.(P.) (BULLIARD(H) Pr.s.ch. (COUJARD.(R.)
Hydrologie	DEBRAY.(C.)
Hygiène	(BOYER
Médecine légale	(DEPARIS.(M.))DEROBERT.(L.))GAULTIER.(M.)
Neuro-chirurgie	N...
Neurologie	SEZE.(S.de)
Obstétrique	(GRASSET.(J.) (LEPAGE.(F.) (MAYER.(M.) (MERGER.(R.) (RAVINA.(J.) (VARANGOT.(J.)
Ophtalmologie	(OFFRET.(G.) (DESVIGNES.(P.)
Oto-rhino-laryngologie	(HALPHEN.(E)Pr.s.ch. (MADURO.(R.)
Parasitologie	BRUMPT.(L.)
Parasitologie coloniale	ff CHABAUD.
Pathologie chirurgicale	(ABOULKER.(P.) (BAUMANN.(J.) (GOSSET.(J.) (HUGUIER.(J) (LAURENCE.(G.) (LEGER.(L.) (OLIVIER.(Cl.) (PADOVANI.(P.)
Pathologie chirurgicale	(POILLEUX.(M.) (ROUX.(M.) (RUDLER.(J.-C.) (VERNE.(J.-M.)
Pathologie expérimentale	MERKLEN.(P.)

MM.

Pathologie médicale	(BERNARD. (J.) (BOUDIN. (G.) (CASTAIGNE. (P.) (CONTE. (M.) (DECOURT. (J.) (DOMART. (A.) (DREYFUS. (Gilbert) (FAUVERT. (R.) (HAMBURGER. (J.) (KOURILSKY. (R.) (MILLIEZ. (P.) (PERRAULT. (M.) (RAMBERT. (P.) (THIEFFRY. (St.) (TURIAF. (J.) (N... (N... (N...
Pédiatrie	(LAPLANE. (R.) (MARIE. (J.)
Pharmacologie	(LEVY. (Melle J.) Pr.s.ch. (CHEYMOL/(J.H.) Pr.s.ch.
Physiologie	(BARGETON. (D.) Pr.s.ch. (PARROT. (J.L.)
Physique médicale	(DJOURNO. (A.) (GOUGEROT. (L.)
Psycniatrie	BARUK. (H.)
Psychiatrie infantile	MICHAUX. (L.)
Stomatologie	CHAPUT. (Mme A.)
Thérapeutique	PERRAULT. chargé de l'enseignement
Urologie	KUSS. (R.)

III- PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES

RAPPELES A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.BRINDEAU.(A.) (Obstétrique),GATELLIER.(J.) (Clinique chirurgicale),LE LORRIER.(V.) (Obstétrique),VAUDESCAL.(R.)(Obstétrique).

IV- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES

CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

	MM.
Clinique chirurgicale........................	AMELINE.(A.) MENEGAUX.(G.) PATEL.(J.) SICARD.(A.)
Clinique médicale...........................	BOULIN.(R.) BROUET.(G.) CACHERA.(R.) GARCIN.(J.) HAGUENAU.(M.) MARCHAL.(G.) SOULIE.(E.)
Clinique obstétricale........................	DIGONNET.(L.) EGALLE.(G.)
Clinique ophtalmologique....................	RENART.(G.)
Clinique urologique..........................	COUVELAIRE.(R.)

MM.

Secrétaire de la Faculté.................. MOREL.(J.)
Secrétaire-adjoint..........................Melle CHANTREUIL(G.)

Conservateur......................Docteur HAHN.(A.)
Bibliothécaires........M.DOUAN.(G.),Melles DUMAITRE.(P.)
GOICHON.(A-M.),LE NOIR.(G.),METIN.(F.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798,l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées,doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MON FILS

A MES AMIS

À Monsieur le Professeur Pierre GASTINEL,

Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine,

Membre de l'Académie de Médecine,

Officier de la Légion d'Honneur,

Vous m'avez fait le grand honneur de m'accueillir dans votre laboratoire.

Vous m'avez fait bénéficier de votre remarquable enseignement.

Veuillez trouver ici, avec l'expression de ma sincère admiration, le témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Hubert JAUSION,

Ancien Professeur Agrégé du Val-de-Grâce ,

Médecin-Chef Directeur des Laboratoires de l'Hôpital Franco-Musulman ,

Officier de la Légion d'Honneur,

Vous m'avez fait la très grande joie de me recevoir dans votre service.

Permettez-moi de vous exprimer ici ma respectueuse affection.

A Monsieur le Professeur Georges LAVIER ,

Profésseur de pathologie Exotique ,

Membre de l'Académie de Médecine,

Officier de la Légion d'Honneur,

Les encouragements que j'ai reçus de vous au cours de mes études ont été pour moi une aide précieuse.

Croyez à ma très grande gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé Robert FASQUELLE,

Votre grande amitié m'a guidée dans la réalisation de cette thèse.

Vous avez toujours été pour moi plus qu'un Professeur.

Veuillez trouver ici l'expression de toute ma gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé Armand NEVOT,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

Vous m'avez toujours fait bénéficier de vos précieux conseils et de votre très grande expérience personnelle en bactériologie.

Croyez à mes remerciements bien sincères.

A Monsieur le Docteur BARBIER,

A Monsieur le Docteur POUTREL,

Chefs de Travaux de Bactériologie,

Avec ma fidèle amitié.

A mes amis du Laboratoire de Bactériologie:

Monsieur le Professeur Agrégé COUTEL,

Monsieur le Docteur CHRISTOL,

Monsieur le Docteur GALLAND,

Monsieur le Docteur COLLART,

Monsieur le Docteur GAUTIER,

Mademoiselle le Docteur GRAND,

Mademoiselle le Docteur MAILLET.

A mes Maitres dans les Hopitaux de Paris:

Monsieur le Professeur MOLLARET,

Monsieur le Professeur GOUGEROT,

Monsieur le Professeur ALAJOUANINE,

Monsieur le Professeur FEVRE,

Monsieur le Professeur SENEQUE,

Monsieur le Professeur DE GENNES,

A Monsieur Firmin CAMPAN,

Chevalier de la Légion d'Honneur,

Inspecteur Général de l'Instruction Publique,

Vous m'avez donné le goût de la médecine.

Vous m'avez guidé dans toutes mes études.

Veuillez trouver ici un modeste témoignage de ma respectueuse amitié.

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DE LA CONSERVATION DU VIRUS VACCINAL -

ROLE DE LA DESSICATION SOUS CONGELATION

°

° °

I N T R O D U C T I O N

La conservation de la virulence du virus vaccinal a toujours été un souci constant pour les hygiénistes. Elle conditionne en effet la généralisation de la lutte contre la variole.

A l'heure actuelle deux types de virus peuvent être utilisés pour la vaccination:

- Le virus vaccinal glyceriné.
- Le virus vaccinal sec.

Nous nous sommes proposés dans ce travail d'étudier expéri - mentalement, au laboratoire, le comportement de ces deux vaccins à des températures rigoureusement constantes, pendant des temps plus ou moins longs.

o

o o

H I S T O R I Q U E

C'est JENNER, Médecin anglais, établi à Berkeley, dans le Comté de Gloucester qui, à la fin du XVIIIème siècle, le I4 mai 1796, démontra péremptoirement que le cow-pox protégeait contre la variole. Il arrivait souvent que des servantes de ferme contractent la maladie en trayant des vaches infectées. JENNER préleva la sérosité d'une pustule de vaccine sur un sujet ainsi atteint et l'inocula à un enfant. Il obtint une lésion exactement semblable à celle obtenue accidentellement. Quelques mois plus tard, il inocula la sérosité d'une pustule variolique à ce même enfant, celui-ci ne contracta pas la maladie.

Ainsi était démontrée l'action préventive du virus vaccinal vis-à-vis du virus variolique.

Dès cette découverte, l'importance de la conservation de ce virus s'imposa à l'esprit de JENNER. Il pensait pouvoir introduire sa vaccination aux Indes, pays dans lequel la variole régnait et règne encore, à l'état endèmique.

Mais des difficultés allaient surgir : les tentatives de JENNER, visant à l'introduction de ce virus aux Indes ne furent pas couronnées de succès (I): au cours d'un premier voyage le navire fit naufrage. Durant la deuxième tentative, la longueur de la traversée, ainsi d'ailleurs que la température élevée, inactivèrent totalement le virus avant son arrivée.

JENNER pensa alors à un autre moyen : transmettre, au cours

./...

même de la traversée, la vaccine de bras à bras à tous les hommes de l'équipage; grâce à ce passage le virus aurait pu être conservé et introduit vivant et actif aux Indes. Pour des raisons d'ordre économique, ce projet dut être abandonné et n'eut pas de suite. On tenta de remplacer la frégate par une caravane, mais ce fut un nouvel échec.

On voit donc que cette idée de conservation du virus préoccupait JENNER, comme elle préoccupe encore maintenant les hygiénistes, afin de permettre l'extension de la vaccination anti-variolique.

Il faut se rappeler qu'avant JENNER, la méthode employée pour protéger contre la variole, consistait à transmettre au sujet une variole que l'on espérait bénigne. Cette technique pratiquée en Orient de longue date, n'allait pas sans graves dangers. C'est dire que la vaccination jennérienne, en raison de son innocuité, prit rapidement une grande extension.

On utilisait alors la technique dite de "bras à bras": les médecins ou les sages-femmes prélevaient sur des nourrissons récemment vaccinés, le contenu des pustules qui servait de vaccin pour inoculer de nouveaux sujets. Mais cette pratique présentait de nombreux inconvénients : la virulence après plusieurs passages s'atténuait; souvent on ne trouvait pas un nouveau-né donneur de virus, et surtout, on transmettait parfois, non seule - ment la vaccine, mais une autre maladie : la syphilis.

./...

C'est pour assurer la conservation du virus vaccinal, et également pour avoir un vaccin d'une activité constante et in - demne de virus syphilitique, que l'on substitua alors la méthode "génisse à bras", à la méthode "bras à bras".

Cette vaccination fut d'abord utilisée à Naples par Michel TROJA, par GALBIATI et par NEGRI : elle fut introduite en France par CHAMBON en 1864.

Le virus était entretenu par des passages successifs sur la peau de jeunes bovidés; CHAMBON établit des règles de prépa - ration strictes: inoculation et récolte du virus devaient être faites chaque semaine, afin d'avoir ainsi toujours à sa disposi - tion un vaccin doué d'activité. Après la récolte, on sacrifiait l'animal pour l'autopsier, et vérifier qu'il était sain (2).

Ces progrès dans la conservation du virus apportaient une grosse amélioration pour l'entretien des souches. Mais ils ne furent absolument pas comparables à ceux que donna la glycérine utilisée comme excipient.

La glycérine en effet, est douée d'une activité bactérici- de qui assure la disparition des staphylocoques adventices accompagnant le virus. Cependant, elle n'atténue que très peu la virulence de la vaccine, donnant ainsi aux centres vaccinogènes la possibilité de constituer un certain stock de virus actif. Elle facilite de plus la mise en tubes du vaccin, et permet le transport à distance des centres vaccinogènes.

./...

Pour bien se représenter cette amélioration, il n'est que de se rappeler les difficultés rencontrées par CHAMBON et ses contemporains pour le transport des génisses vaccinifères jusqu'au lieu de vaccination (hôpitaux, mairies, écoles); de se souvenir comment en cas d'épidémies il était nécessaire d'augmenter brusquement le nombre d'animaux vaccinifères.

Une autre grande étape dans la conservation du virus fut franchie grâce à l'utilisation du froid. En effet, dès le début de l'emploi du vaccin glycériné, les praticiens avaient noté la moins bonne conservation du virus pendant les mois d'été. On y remédia alors en soustrayant les tubes à l'action de la chaleur, et en les entreposant dans des endroits frais: caves, glacières. Le problème se posait d'une manière encore plus importante dans les pays chauds; c'est pourquoi, les médecins coloniaux s'ingénièrent à utiliser pour le transport des récipients qui le mettait à l'abri des fortes chaleurs: caisses à doubles ou multiples parois, isolées par des couches de liège ou de feutre, vases de Dewar, etc...

Quand apparurent les appareils à froid industriel, capables d'assurer des températures de l'ordre de -20° ou -25°, toute une série d'études fut poursuivie en France de 1908 à 1913 pour étudier le comportement du virus. On nota que le vaccin glycériné, placé d'une façon permanente à une telle température, conservait sa virulence pendant plusieurs années, la glycérine n'exerçant

./...

qu'à peine son pouvoir virulicide. Le vaccin put ainsi être stocké, et des réserves importantes furent disponibles en cas d'épidémies éventuelles.

CAMUS en 1912 signala une nouvelle technique qui permettait sous un très petit volume, de conserver des doses importantes de virus vaccinal (3): la congélation de la pulpe immédiatement après sa récolte, la pulpe étant ensuite conservée dans un frigorifique à -20°. Dans ces conditions le virus garde toute son activité; et des expériences réalisées en 1939 à l'Académie de Médecine, par H.BENARD et M. TISSIER sur des pulpes recueil - lies 10 à 12 ans plus tôt ont confirmé toutes les prévisions de CAMUS.

La dessication du virus vaccinal fut une méthode de conservation utilisée bien avant l'introduction de la glycérine. JENNER lui-même utilisa les croûtes vaccinales séchées sur des fils de coton. BRETONNEAU en 1802 eut l'idée de placer du vaccin séché entre deux lames de verres, de manière à pouvoir l'expédier au loin. JEAN DE CARRO enduisait de vaccin des pointes d'ivoire, les séchait à l'air et les mettait à l'abri de la lumière dans des boites en bois, il parvint à expédier ainsi la vaccine à Bagdad, puis à Bombay. C'est en 1894 que CHAMBON et SAINT-YVES-MENARD préparèrent à l'intention du Professeur WURTZ, chargé d'une mission en Ethiopie, un vaccin desséché sur pointes d'ivoire (4). CAMUS reprit l'étude du vaccin sec, et mit au point

./...

une méthode d'évaporation rapide de la pulpe, en couche mince, sous cloche à vide en présence d'acide sulfurique (5). Cependant, au cours de la préparation et au cours du transport, une baisse de la virulence initiale était observée. Ce vaccin fut utilisé avec succès par SOREL et ARLO en 1911 et 1912, en Côte de l'Or, (6), où, malgré les transports successifs, il donna de nombreux résultats positifs.

La dessication du virus, après congélation, fut appliquée au cours de la guerre 1914-1918 par L.CAMUS et A.FASQUELLE qui soumirent la pulpe à la congélation rapide puis, sous vide poussé, assurèrent la dessication directement à partir de l'état congelé. Ainsi, grâce à l'association "dessication-congélation", ils obtinrent un vaccin sec de durée de conservation importante.

°

° °

Ce bref rappel historique, montre à propos du virus vaccinal, comment l'application à la vaccine, d'une série de procédés divers et successifs, permit d'aboutir à des résultats importants du point de vue pratique.

C'est à vrai dire, la seule utilisation journalière qui a permis de retenir les deux préparations différentes de virus vaccinal:

- Le virus vaccinal glycériné.
- Le virus vaccinal sec.

./...

Il importait d'étudier expérimentalement au laboratoire leur comportement.

E T U D E D U V I R U S G L Y C E R I N E

Pour la production du vaccin on a recours à de jeunes bovidés, en bonne santé, de race normande en général, et ne présentant aucune réaction à la tuberculine. Après avoir désinfecté et rasé les flancs, les animaux sont inoculés par scarification, à l'aide d'une semence sélectionnée au cours d'un passage antérieur.

Au bout de cinq jours, les pustules sont complètement déve - loppées; à ce moment on récolte la pulpe par grattage à l'aide d'une curette spéciale.

A ce stade la pulpe est stockée à -20°C, ce qui lui assure une excellente conservation. Puis, on y adjoint une solution de sérum physiologique glycériné à 50 pour IOO, à raison de I partie de pulpe pour 4,5 parties de sérum physiologique glycériné. Ce mélange est laissé 6 mois à la glacière, à une température de 0°C à +4°C.

La lymphe vaccinale, recueillie sur les téguments de l'ani - mal vaccinifère, contient, à côté du virus, des germes figurés. C'est dire l'importance du contrôle bactériologique; on sait que la présence de germes pathogènes (en particulier: Cl. Tetani, B.anthracis, Streptocoque hémolytique) entraine l'élimination de la récolte. Par contre, la glycérine assure la disparition des germes saprophytes banaux, notamment les staphylocoques adventices.

./...

Comme elle attaque peu le virus, à condition que le temps de contact soit bien réglé, on a longtemps considéré que le vaccin glycériné s'imposait comme la préparation la meilleure pour la lutte anti-variolique.

Malheureusement, il existe une restriction à l'emploi de ce vaccin: c'est sa conservation limitée.

A la température ambiante en France, la vaccin ne conserve une bonne activité que durant une quarantaine de jours; d'où la limite de validité pratique fixée par l'Académie de Médecine à un mois. Au delà de ce temps, le vaccin peut cependant encore déterminer chez certains sujets, d'authentiques pustules vacci - nales conférant une immunité valable. Mais l'expérience a montré que des vaccinations en série, faites avec un tel vaccin atténué chez des nourrissons, c'est à dire chez les sujets les plus réceptifs, sont à l'origine d'un pourcentage d'échecs incompati - ble avec la protection de toute une population contre la variole.

C'est pourquoi le vaccin glycériné doit être conservé à une température basse.

Le but de ce travail a été d'étudier expérimentalement, d'une manière systématique la conservation de ce virus à diffé - rentes températures.

./...

TECHNIQUES D'ETUDES.

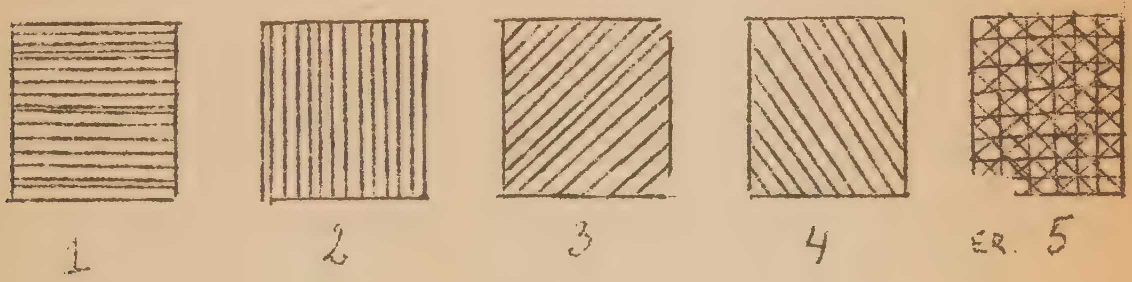
Nous avons utilisé comme animal d'expérience des lapins à pelage blanc. La technique utilisée a été celle de CALMETTE et GUERIN modifiée par CAMUS:

Les lapins sont rasés sur toute la région dorsale. Puis, l'animal étant fixé sur le ventre, on délimite sur son dos un certain nombre de plages, d'une superficie de 5cm2 (2cm sur 2,5cm)

Chaque plage est séparée de la suivante par une bande de Icm de large.

Sur chaque plage, on dépose I/IO de cm3 (soit deux gouttes) d'une dilution du virus vaccinal.

L'inoculation est faite par grattage superficiel, à l'aide d'une pipette de tranche de section régulière. Ce grattage est exercé d'abord horizontalement, puis verticalement, enfin selon les deux diagonales, jusqu'à l'apparition d'un erythème sur la plage entière, selon le schéma suivant :



Ainsi, sur un animal, on peut délimiter deux séries de plage ; l'une servira à l'expertise d'un vaccin;

./...

le coté opposé étant utilisé pour l'appréciation comparative d'un vaccin témoin.

Les dilutions employées ont été les suivantes :

I/I0, I/I00, I/I.000, I/3.000, I/I0.000.

Les résultats ont été notés de la façon suivante :

- Confluent : lésions couvrant toute la surface.
- Cohérent : lésions couvrant 50 à 80 pour I00 de la surface.
- Pustules isolées : avec indication du nombre de pustules.

Un bon vaccin détermine une éruption confluente au I/I0 et au I/I00; au I/I.000, au I/3.000 et au I/I0.000, on doit obtenir une éruption cohérente, ou un nombre appréciable de pustules.

Les températures auxquelles les vaccins ont été soumis, sont les suivantes :

0°C, 22°C, 37°C et 45°C.

Chaque vaccin a été testé vis-à-vis d'un vaccin témoin conservé à une température de -I5°C.

°

° °

PROTOCOLES D'EXPERIENCES.

Protocole N°I

Etude du comportement de la souche témoin et de la souche à expertiser au départ.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	8
I/I0.000	Confluent	4

===

Protocole N °2

Durée de conservation:7 jours - Température de conservation:45°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	0
I/I00	Confluent	I
I/I.000	Confluent	0
I/3.000	Confluent	0
I/I0.000	Confluent	0

===

Protocole N°3

Durée de conservation:7 jours. - Température de conservation:37°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	7
I/I0.000	Confluent	5

Protocole N°4

Durée de conservation:I4 jours. - Température de conservation:37°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	3
I/I00	Confluent	2
I/I.000	Confluent	2
I/3.000	Confluent	I
I/I0.000	Confluent	0

Protocole N°5

Durée de conservation:7 jours. - Température de conservation:22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	9
I/IO.000	Confluent	2

Protocole N°6

Durée de conservation:2I jours - Température de conservation:22°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	I5
I/3.000	Confluent	6
I/IO.000	Confluent	2

Protocole N°7

Durée de conservation:I mois - Température de conservation:22°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	I5
I/I.000	Confluent	2
I/3.000	Confluent	2
I/I0.000	Confluent	3

Protocole N°8

Durée de conservation:I mois. - Température de conservation:0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	7
I/IO.000	Confluent	5

Protocole N°9

Durée de conservation:2 mois. - Température de conservation:0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	7
I/IO.000	Confluent	3

Protocole N°I0

Durée de conservation:6 mois. - Température de conservation:0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	9
I/I0.000	Confluent	4

RESULTATS

En comparant les divers protocoles rappelés ci-dessus, les constatations suivantes s'imposent :

Une température de +5°C pendant une durée de 8 jours, anihile totalement l'activité du virus glycériné.

Une température de 37°C exige I5 jours pour atténuer considérablement la virulence; en effet, les quelques pustules que détermine encore ce vaccin, témoignent d'une très faible activité incompatible avec toute utilisation pratique.

Une température de 22°C pendant I mois limite déjà d'une manière importante la virulence du vaccin. Par conséquent, pour qu'une bonne prévention anti-variolique soit réalisée avec un vaccin glycériné, il est indispensable qu'entre sa sortie du centre vaccinogène et son utilisation, il soit maintenu à une température inférieure à 22°C.

Par contre à 0°C la virulence du lot n'est pas touchée pendant une durée de 6 mois.

o

o o

E T U D E   D U   V I R U S   S E C

Le principe de la méthode de dessication sous congélation s'est inspiré des travaux de D'ARSONVAL et BORDAS sur la distil - lation à basse température qui consiste à condenser des vapeurs produites sous vide et ensuite à les solidifier dans un appareil dit "condensateur" plongé soit dans l'air liquide, soit dans l'acide carbonique neige dissous dans l'acétone (7).

L.CAMUS et A.FASQUELLE soumirent d'abord la pulpe à la congélation rapide, puis, sous vide poussé, ils assurèrent sa dessication directement à partir de l'état congelé. Comme le dirent WURTZ et CAMUS lorsqu'ils publièrent la technique, une fois la guerre terminée (8) "on déshydrate ainsi le virus sans l'altérer et on le fait passer de l'état d'activité à l'état de sommeil". Une fois desséché, le virus est manipulé dans une chambre sèche ou sous cloche, pour éviter la réhydratation; il est finalement réparti en ampoules, qui sont fermées à la lampe, sous vide.

o

o o

C'est à l'association de la congélation et de la dessication qu'est due la conservation complète de la virulence du vaccin (9).

En effet, la dessication simple, à température ordinaire, n'est pas satisfaisante. CAMUS l'avait noté en I909 pour le virus vaccinal, PASTEUR bien avant lui pour la rage. Mais atténuer le virus rabique était le but cherché par PASTEUR. CAMUS, lui,

./...

voulait préserver au contraire la virulence du virus vaccinal. D'où ses recherches ultérieures. C'est ainsi qu'il vit que les protéines sériques sont dénaturées par une telle dessication, qu'elles perdent certaines de leurs propriétés, entre autres leur solubilité et qu'il conclut que, d'une façon générale, la dessication simple était un mauvais moyen de conserver la vitalité du virus.

De même, au point de vue pratique, la congélation, seule, ne répond pas au but recherché. Encore faut-il distinguer entre les modes de congélation, congélation lente et progressive ou congélation brutale n'ont pas du tout les mêmes effets.

Le meilleur moyen de savoir ce qui se passe dans l'un ou l'autre cas est de soumettre un tissu musculaire par exemple une viande de boucherie à la congélation et à la décongélation.

Si la viande subit une congélation lente et progressive, lorsque on la décongèlera, on observera l'exsudation d'une importante sérosité; et elle apparaitra molle, de couleur framboisée, peu appétissante. Au goût, elle aura perdu sa saveur; en un mot elle a subi une altération manifeste.

Si l'on place au contraire un morceau de viande à la congélation rapide, à basse température, à la décongélation, elle se présente comme une viande fraîche, tant au point de vue de son aspect que de ses qualités primitives.

./...

On observe exactement les mêmes phénomènes au laboratoire pour la congélation des virus ou des bactéries: la congélation lente, celle qu'on réalise dans les petites armoires frigorifi - ques couramment utilisées, donne de mauvais résultats pour la conservation de leur vitalité. Au contraire, la congélation rapide, à très basses températures, assure leur parfaite conser - vation.

Mais le maintien au froid des produits ainsi congelés impose de nombreuses servitudes: pannes mécaniques, arrêt de courant, surtout transports. C'est dans cette idée que CAMUS et sès colla-borateurs associèrent les deux méthodes de la congélation et de la dessication: congélation brusque, d'où conservations des caractères primitifs du produit; dessication sous vide, d'où maintien de ces mêmes caractères pour un produit conservé en ampoules scellées, à la température ambiante.

C'est essentiellement le problème de l'eau qui est en jeu. Dans un tissu (la pulpe vaccinale n'est pas autre chose qu'un broyat de cellules épidermiques infectées par le virus vaccinal) NICLOUX proposait de considérer qu'il existe deux eaux différen - tes, l'eau libre (eau interstitielle intra et extra-cellulaire) et l'eau liée (eau micellaire liée aux protides); la première serait perméable à l'alcool et douée de pouvoir solvant; la deuxième, eau mystérieuse, imperméable à l'alcool et dépourvue de pouvoir de solvatation. Cette distinction parait un peu absolue;

./...

il serait peut-être plus vraisemblable de penser qu'une série d'états intermédiaires existe entre l'eau libre et l'eau liée, en équilibre les uns par rapport aux autres, caractérisés chacun par des propriétés quelque peu différentes, notamment des variations du point de congélation.

Lorsqu'on réalise la dessication à l'étuve à I00°C d'un produit organique, le tissu est déshydraté en totalité. Dans l'extrait sec se retrouvent les éléments constitutifs intacts dans leur structure chimique primaire; mais on conçoit qu'un procédé assez brutal pour extraire toute l'eau, même celle faisant partie intégrante des cénapses, ne puisse y parvenir qu'en disloquant la structure secondaire des grosses molécules.

La dessication simple à température ordinaire sous cloche, (en présence d'acide sulfurique, par exemple) détermine de proche en proche le retrait de l'eau; une première cause d'altération résulte de l'action autolytique des enzymes qui continuent d'agir tant que persiste de l'eau; l'assèchement progressif a une autre conséquence, c'est de déterminer la formation de solutions concentrées qui bouleversent les réactions chimiques.

Les manifêstations de la congélation lente et progressive ont été étudiées par PIETTRE (I0) pour les fibres musculaires: de gros cristaux incolores d'eaux se forment d'abord, qui, gagnant de proche, déchirent les membranes, compriment et désagrègent le contenu cellulaire; puis des cristaux de myohémoglo -

./...

bine apparaissent, de plus en plus colorés, au fur et à mesure de la concentration progressive des solutions; on retrouve en somme, comme dans le cas de la deshydratation lente, du fait de la raréfaction progressive de l'eau liquide, les actions modificatrices des solutions concentrées et les effets des actions enzymatiques.

La congélation rapide à basse température agit de toute autre manière: le produit est pris en masse; saisie d'emblée par le froid, l'eau forme une quantité de micro-cristaux, ou même si la température est assez basse, une sorte de solide amorphe qui, apparu en même temps sur place et partout, respecte toutes les structures. L'eau étant solidifiée, il en résulte le blocage immédiat de tous les enzymes et une absence du phénomène des solutions concentrées, qui assure la permanence de toutes les architectures moléculaires, tant que la décongélation ne sera pas amorcée.

Ce qui est admirable dans la dessication sous congélation, c'est qu'elle permet la prolongation de cet état, même à la température ordinaire. En retirant rapidement l'eau du produit sous vide poussé, en la faisant passer directement de l'état solide (où elle est dans la pulpe congelée) à l'état gazeux (où elle sera immédiatement la victime du piège eau), sans qu'elle passe jamais par l'état liquide, on réalise une véritable fixation physique des structures, qui échappent ainsi aux dangers des actions enzymatiques ou des solutions concentrées concevable seulement en présence d'eau liquide.

./...

C'est, pense-t-on, parce que l'architecture spaciale de leurs molécules est respectée par la dessication sous congélation que les "corpuscules vaccinaux" conservent toutes leurs propriétés vitales, en puissance, à l'état sec. C'est parce qu'ils retrouvent ces molécules exactement dans la même disposition structurales où elles se trouvaient au départ qu'ils sont susceptibles de reprendre le cours de leur vie et de leurs multiplications, dès que l'adjonction d'eau autorise à nouveau les échanges entre eux et un milieu cellulaire favorable.

o

o o

De 1908 à 1919, les efforts de D'ARSONVAL, de BORDAS, de L.CAMUS, de A.FASQUELLE, de WURTZ réussirent en somme à réaliser artificiellement au laboratoire, par la dessication sous congélation, pour le virus vaccinal, les conditions de vie très ralentie que la nature applique pour les germes sporulés, quand elle les fait se transformer en spores - ou pour les graines des plantes.

On sait qu'en 1935, aux Etats-Unis, sous le nom de "lyophilisation", fut décrite une méthode dont le principe est analogue (II) pour l'obtention de sérums déssechés, faciles à remettre en solution.

Le mot "lyophylisation" utilisé dans ce sens, parait sujet à critiques pour deux raisons: d'abord parce que, comme l'écrivait en 1934 J.DUCLAUX, le mot lyophile s'entend pour les groupes

./...

fonctionnels qui accroissent la solubilité d'un corps dans un autre, et que, dans le cas de l'eau, ces groupes doivent être dits "hydrophiles" (I2): "hydrophilisation" serait donc plus juste que "lyophilisation". Ensuite parce que, dans le cas dês virus et des bactéries, le but que l'on poursuit c'est d'obtenir, non un pro - duit lyophile ou hydrophile, mais un produit débarrassé de son eau et qui en reste exempt. Mais si leur terminologie est discu - table, les faits que rapportent FLOSDORF et MUDD ne le sont pas; et leur mérite est grand d'avoir réussi à préciser toutes les précautions indispensables pour assurer une bonne dessication sous congélation.

La méthode, depuis, s'est généralisée dans le monde entier. Du point de vue théorique, elle pose certes des problèmes qui sont loin d'être résolus sur l'essence même de la vie.

Du point de vue pratique, cette technique rend d'immenses services et nous nous contenterons de rappeler, en dehors de la littérature américaine, si riche à ce sujet, les recherches françaises de GASTINEL, de LEPINE et PLOTZ, de VERGE et GORET, de BRETEY et VAN DEINSE, d'HAUDUROY, de GIRARD (I3).

o

o o

Pratiquement, ce vaccin sec ne fut utilisé sur une large échelle, qu'à partir des années I9I7 et I9I8, dans les pays d' Outre-Mer. Dès cette époque, cette utilisation permit le succès

./...

de la vaccination des troupes noires avant leur départ pour le front européen.

D'autre part, ce même vaccin sec, donna des résultats extrèmement importants dans la prévention anti-variolique des populations civiles des régions à climat tropical, notamment dans les territoires africains.

Que quelques cas de variole soient observés dans un district, ce qu'il importe pour le Service de Santé, c'est, immédiatement, de procéder à la vaccination en masse des habitants ayant vécu au contact des malades. Une prévention anti-variolique efficace pose un problème de jours. La présence de parcs vaccinogènes, capables de préparer immédiatement du vaccin glycériné, avait déja permis une lutte couronnée de succès contre la maladie. Mais le temps de préparation, et les prédautions nécessaires au transport, posaient des problèmes difficiles à résoudre.

Au contraire le stockage de virus sec, non soumis à des précautions de transport, permet d'approvisionner de toute urgence une région où la demande en vaccin est importante.

C'est beaucoup grâce au virus vaccinal sec, qu'a été due la régression progressive de la variole en Afrique Française.

Il paraissait donc logique - et on l'a fait - de stocker le virus sec dans les différents postes médicaux.

./...

Toutefois, la question qui se pose est la suivante: le vaccin sec, scellé sous vide, peut-il rester sans précautions à des températures quelconques pendant un temps illimité ?

Pour résoudre la question, il importait de poursuivre au laboratoire cette étude.

TECHNIQUES D'ETUDES -

La méthode utilisée a été la même que celle que nous avons exposé à propos du vaccin glycériné.

La présentation de ce vaccin nécessite un broyage dans un mortier, et une remise en suspension dans Icm3 d'eau glycérinée à 50 pour I00. Cette dilution permet de reconstituer une pulpe vaccinale analogue au vaccin glycériné.

Nous nous sommes servi des mêmes dilutions:

I/I0, I/I00, I/I.000, I/3.000 et I/I0.000;

ainsi que des mêmes températures de conservation du virus:

0°C, 22°C, 37°C et 45°C.

Les dosages ont été effectués par rapport à un vaccin témoin conservé à -I5°C.

o

o o

PROTOCOLES D'EXPERIENCES

Protocole n°II

Etude du comportement de la souche témoin et de la souche à expertiser au départ

---

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/IO.000	Confluent	Confluent

==

Protocole N°I2

Durée de conservation:7 jours - Température de conservation:45°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Cohérent
I/I.000	Confluent	IO
I/3.000	Confluent	2
I/IO.000	Confluent	2

==

Protocole N°I3

Durée de conservation:I4 jours - Température de conservation:45°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Cohérent
I/I.000	Confluent	5
I/3.000	Confluent	2
I/I0.000	Confluent	0

Protocole N°I4

Durée de conservation:I mois - Température de conservation:45°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	8
I/I.000	Confluent	4
I/3.000	Confluent	I
I/I0.000	Confluent	0

Protocole N°I5

Durée de conservation: Imois I/2-Température de conservation:45°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Cohérent
I/I00	Confluent	I5
I/I.000	Confluent	3
I/3.000	Confluent	0
I/I0.000	Confluent	0

==

Protocole N°I6

Durée de conservation: 7 jours - Température de conservation:37°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	Cohérent
I/I0.000	Confluent	I2

Protocole N°I7

Durée de conservation:I4 jours - Température de conservation:37°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Cohérent
I/I0.000	Confluent	6

Protocole N°I8

Durée de conservation:I mois - Température de conservation:37°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Cohérent
I/3.000	Confluent	6
I/IO.000	Confluent	7

==

Protocole N°I9

Durée de conservation:I mois I/2-Température de conservation:37°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	20
I/IOO	Confluent	5
I/I.000	Confluent	0
I/3.000	Confluent	0
I/IO.000	Confluent	0

==

Protocole N°20

Durée de conservation:2 mois - Température de conservation:37°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Cohérent
I/I00	Confluent	7
I/I.000	Confluent	2
I/3.000	Confluent	0
I/I0.000	Confluent	0

==

Protocole N°2I

Durée de conservation:I5 jours - Température de conservation:22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/I0.000	Confluent	25

Protocole N°22

Durée de conservation:I mois - Température de conservation: 22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/I0.000	Confluent	Cohérent

Protocole N°23

Durée de conservation: 2 mois - Température de conservation: 22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/IO.000	Confluent	Confluent

Protocole N°24

Durée de conservation: 3 mois - Température de conservation:22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/IO.000	Confluent	Confluent

Protocole N°25

Durée de conservation:4 mois I/2 Température de conservation:22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Cohérent
I/I.000	Confluent	IO
I/3.000	Confluent	6
I/IO.000	Confluent	8

==

Protocoole N°26

Durée de conservation: 5 mois - Température de conservation:22°C

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Cohérent
I/I.000	Confluent	IO
I/3.000	Confluent	I2
I/IO.000	Confluent	9

==

Protocole N°27

Durée de conservation: I mois - Température de conservation: 0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/IO.000	Confluent	Confluent

Protocole N°28

Durée de conservation: 2 mois - Température de conservation: 0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/IO	Confluent	Confluent
I/IOO	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/IO.000	Confluent	Confluent

Protocole N°29

Durée de conservation: 6 mois - Température de conservation: 0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/I0.000	Confluent	Confluent

Protocole N°30

Durée de conservation: I an - Température de conservation : 0°C.

Dilution	Vaccin témoin	Vaccin à expertiser
I/I0	Confluent	Confluent
I/I00	Confluent	Confluent
I/I.000	Confluent	Confluent
I/3.000	Confluent	Confluent
I/I0.000	Confluent	Confluent

RESULTATS

Les résultats de cette expérimentation montrent donc que le vaccin sec, au bout de 15 jours, à 45°C, a déjà perdu une partie importante de sa virulence.

- Qu'à 37°C, au bout d'un mois, il possède encore une activité compatible avec une vaccination efficace.

- Qu'à 22°C, au bout de 4 mois et demi, il parait présenter une limitation importante de sa virulence d'origine; l'augmenta - tion apparente de la virulence que l'on note sur les protocoles 2I, 22, et 23 à propos de la dilution au I/I0.000 (25 pustules, cohérent, confluent) nous parait dans les limites des erreurs de lecture.

-Par contre, à 0°C, au bout de I an, il n'a rien perdu de sa virulence.

o

o o

D I S C U S S I O N

Au sujet des observations précédentes, deux sortes de remarques peuvent être faites, les unes d'ordre pratique, les autres théoriques.

Pour la vaccination anti-variolique, le virus sec, si l'on ne tient compte que de sa résistance à la chaleur, semble présenter un gros avantage sur le virus glycériné. Toutefois, (sans même insister sur sa préparation et sa purification plus délicates) il offre pour le praticien quelques inconvénients : il exige une remise en suspension homogène avant utilisation; il rend diffi - cile le fractionnement des doses, et par suite, les vaccinations individuelles. Aussi faut-il faire entrer en jeu toutes ces don - nées pour préciser les indications respectives du vaccin glycériné et du vaccin sec.

Dans les pays tempérés, en Europe, où les communications sont faciles et rapides, les fortes températures rares, le vaccin glycériné est d'un emploi courant. Mais on ne devra jamais oublier, qu'une température de 45°C pendant 8 jours, ou de 37°C pendant I5 jours, lui retirent toute efficacité. C'est dire, notamment en été, les précautions dont doivent être entourés son transport postal et son stockage dans les lieux de vaccination. Sous ces réserves, son utilisation parait rationelle.

Parfois, cependant, la dessication sous congélation, pour un vaccin anti-variolique utilisé dans la métropole, pourrait

./...

avoir une indication exceptionnelle : c'est lorsque l'on désire avoir recours à un vaccin atténué, par exemple chez un enfant de plus d'un an, qui n'a jamais été vacciné, ou chez des sujets chez qui on a lieu de redouter une réaction générale, chez un asthma - tique, ou un porteur de lésions rénales. En raison même de leur peu de virulence, de tels vaccins glycérinés atténués ont une très faible limite de validité. La dessication sous congélation confèrerait à un tel vaccin atténué une durée d'utilisation plus longue (I4).

Dans les pays chauds, tout au contraire, le vaccin sec s'impose : l'inconvénient de la remise en suspension cède à coup sur devant l'importance d'une prévention anti-variolique correcte. Au surplus, les menaces d'une épidémie de variole obligent à des vaccinations collectives. Mais les expériences que nous venons de rapporter montrent les précautions relatives dont on devra s'en - tourer. S'il est logique de concevoir que chaque pharmacie de brousse, que chaque poste médical soient munis d'une petite réserve de virus vaccinal sec pour parer à toute éventualité, il paraitrait imprudent de répartir ainsi tout le stock de vaccin prévu pour un territoire.

Il serait au contraire beaucoup plus souhaitable, que ces réserves soient constituées en certains centres, dans lesquels sa conservation serait assurée sous contrôle. On devrait veiller à ce que ce virus vaccinal sec ne soit pas emmagasiné dans des

./...

locaux quelconques; des chambres frigorifiques ne seraient point nécessaires, mais seulement des salles où la température se maintiendrait aux alentours de I5 à 20°C. De ces centres, au fur et à mesure des demandes, le vaccin serait acheminé vers les régions où il serait utilisé. Il pourrait ainsi affronter, sans que baisse sa virulence, les fortes chaleurs au cours de son transport jusqu'au poste de vaccination.

A ce sujet, nous tenons à faire remarquer que nos expériences au laboratoire ont soumis le virus sec à des conditions qui ne sont pas exactement superposables aux conditions réelles. Au laboratoire, c'est un séjour permanent, à des températures précises, que nous avons réalisé; en pratique, le virus subit l'influence des variations thermiques nycthémérales. Dans des expériences complémentaires nous étudions actuellement au laboratoire, l'effet de telles ondulations thermiques.

Au point de vue théorique il ne nous parait pas moins intéressant d'essayer d'interpréter les résultats des protocoles d'expériences.

Nous tenons tout d'abord à faire une remarque préliminaire: qu'il s'agisse du maintien du virus sec pendant un mois et demi à 45°C, deux mois à 37°C, cinq mois à 22°C, jamais nous n'avons noté une disparition totale de la virulence.

En effet ce que nous avons voulu préciser, c'est le moment où le virus n'est plus capable d'assurer une vaccination efficace.

./...

Le problème est tout différent, de conserver une souche de virus capable de proliférer lorsqu'elle est replacée dans des conditions favorables, ou de disposer d'un vaccin efficient.

Dans le premier cas, il suffit que quelques éléments virulents aient été respectés; dans l'autre, au contraire, il importe que persistent un nombre suffisant de ces éléments, afin de déterminer en pratique une pustule vaccinale chez 95 pour I00 des primo-vaccinés.

Autrement dit, la conservation d'un vaccin pose des exigences beaucoup plus sévères à la dessication sous congélation que la simple conservation d'une souche.

Or, qu'avons-nous observé ? Que l'action de la température, qu'il s'agisse du virus glycériné ou du virus sec, s'exerce de manière absolument comparable : on assiste à une diminution progressive de la virulence, d'autant plus rapide que la température est plus élevée. La seule différence - et elle est d'importance - est que dans le cas du vaccin glycériné, la perte de virulence se compte en jours, alors que dans le cas du virus sec elle se chiffre par mois.

Cette différence, nous l'interprétons comme étant en rapport avec la teneur en eau de la pulpe vaccinale. Aussi complète que soit la dessication, elle n'aboutit pas à la suppression totale de toute l'eau du produit. C'est la permanence de cette eau

./...

résiduelle qui entretient une agitation moléculaire, augmentant avec la température, d'où destruction plus ou moins rapide du virus.

La dessication sous congélation, en l'état actuel de nos techniques, n'aboutit donc pas à une stabilisation complète du virus, à une sorte de "cristallisation". Comme très souvent en biologie, c'est seulement vers un "à peu près" que nous pouvons tendre.

C O N C L U S I O N S

Souci constant des hygiénistes, la conservation du virus vaccinal conditionne la généralisation de la lutte contre la variole.

Il importait d'étudier, au laboratoire, le comportement du vaccin anti-variolique en fonction de la température.

o

o o

Le virus glycériné perd très rapidement sa virulence; à 45°C en huit jours, à 37°C en quinze jours, son activité est détruite; seul le maintien au-dessous de 22°C lui assure une conservation d'un mois.

o

o o

La dessication sous congélation confère par contre au virus vaccinal une durée de conservation plus longue : et il faut un maintien à une température constante de 45°C pendant quinze jours, ou de 37°C pendant un mois et demi, pour lui faire perdre son efficience. Un séjour à 22°C pendant trois mois ne semble en rien diminuer sa virulence.

o

o o

Du point de vue pratique ces observations sont importantes, car elles indiquent les précautions à prendre pour assurer dans les pays chauds une prévention anti-variolique efficace.

Du point de vue théoriques elles montrent que la dessica - tion sous congélation ne fixe pas indéfiniment une structure biologique, mais freine seulement - certes de manière admirable - les processus de désintégration.

o

o o

BIBLIOGRAPHIE

(I) Centième ann. mort de Jenner. Acad. Med.I923 (Masson, éd.)

(2) CHAMBON Ernest. Souvenirs. par André Fasquelle; I932 (Baillère, éd.)

(3) CAMUS L. C.R. Cong. du Froid. Toulouse, sept. I9I2.

(4) WURTZ. Semaine médicale. 7 Déc. I898.

(5) CAMUS L. Soc. Biol. I909. 67. p.626.

(6) SOREL ET ARLO. Rev. Méd. Hyg. trop. I9I2. 9. I26.

(7) D'ARSONVAL et BORDAS C.R.A.S. I42 et I43. I4 mai I906, 28 mai I906 et 22 oct. I906.
C.R. Cong. froid; Toulouse, sept.I9I2.
Bull. Acad. Méd. I9I9. 82. 225.

(8) WURTZ et CAMUS. Bull. Acad. Méd. I9I9. 82. I2.
Soc. Biol. I9I6. 79. IOIO.

(9) FASQUELLE R. et BARBIER P. Sem. Hop. I950. 92. 4762.

(IO) PIETTRE. Bull. Inst. Intern. froid. I947. 4. 34.

(II) FLOSDORF et MUDD. Of. Imm. I935. 29. 389.

(I2) DUCLAUX J. Act. scient et ind. I934. n°I25 (Hermann éd.).

(I3) GASTINEL Soc. Biol. I94I. I35. 30.
LEPINE Soc. Biol. I938. I27. 264.
Ann. Inst. Past. I94I. 67. 370.
VERGE ET GORET. Ann. Inst. Past. I94I. 67. 367.
HAUDUROY. Presse méd. I950. 80. I397.
Ann. Biol. Clin. I95I. I. I00.
BRETEY, VAN DEINSE. Congrès B.C.G. Paris. I948.
FASQUELLE et BARBIER. Ann. Inst. Past. I95I. 80. 2I7.

(I4) FASQUELLE Ann. Inst. Past. I952. 82. 76I.

VU: Le Président de Thèse:
P. GASTINEL

VU: Le Doyen de la Faculté:
L. BINET

VU et PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de
l'Académie de Paris:

J. SARRAILH

Editions de l'A. G. E. M. P.